Système de test ZEUS IFA nDNA

IVD

REF FA1001

UTILISATION PRÉVUE

Le système de test ZEUS IFA nDNA est un essai préstandardisé conçu pour la détection qualitative et semi-quantitative d'anticorps de l'ADN natif par immunofluorescence indirecte (IFA). Ce système de test est destiné à un usage diagnostique *In Vitro*.

SIGNIFICATION ET CONTEXTE

Les anticorps anti-acide désoxyribonucléique natif (anti-ADNn) sont fréquemment découverts dans le sérum provenant de patients atteints de lupus érythémateux systémique (LES) spontané actif et de certains syndromes de lupus induits par des médicaments (1-9). La présence d'anticorps anti-ADNn est indicative d'un LES actif et présente une corrélation étroite avec un début de néphrite lupus (5, 10-13). La spécificité des anticorps anti-ADNn en présence de LES est nettement plus grande que celle des anticorps antinucléaires (5, 12). Par conséquent, la détection des anticorps anti-ADNn constitue un outil de diagnostic valable, ainsi qu'un outil pronostique utile pour le diagnostic différentiel du LES (5, 10-13). La présence d'anticorps anti-ADNn dans le sérum d'une personne avec un diagnostic confirmé de LES est considérée comme une indication de maladie récurrente active ou de réponse faible à un traitement (5, 13). Par conséquent, la surveillance périodique des anticorps anti-ADNn chez les personnes ayant un diagnostic confirmé de LES aide à évaluer le développement clinique de la maladie et la réaction du patient au traitement (5, 10-13). Des anticorps anti-ADN ont été découverts dans le sérum de patients atteints de LES il y a plus de 15 ans (1-4). Depuis lors, des anticorps anti-ADN ont été étudiés avec de nombreuses techniques, incluant la diffusion de gel (1, 14-15), la fixation de complément (2, 14 et 16), l'agglutination (17, 18), les tests d'ADN inopinés (13, 19), la radioimmuno-électrophorèse (20), la contre-immunoélectrophorèse (21, 22) et la précipitation de sulfate d'ammonium (10, 23 et 24). Des efforts considérables ont été faits pour déterminer la spécificité des anticorps anti-ADN. Il apparaît maintenant qu'il existe des anticorps identifiables réagissant avec l'ADNn ou avec l'ADN simple brin (ADNs) dénaturé ou avec les deux (8, 12, 14 et 20). Il semble qu'il soit possible d'établir une corrélation entre les anticorps d'ADNn et l'activité clinique de la maladie (2, 5, 10 et 25). En outre, des anticorps anti-ADN ont été élués des reins de patients atteints de LES et un rapport a démontré la présence de complexes ADN-anti-ADN dans le sérum de patients atteints de LES actif (26). Cependant, ces anticorps ont été découverts chez des patients avec et sans néphrite lupus active (27, 28).

Le système de test ZEUS IFA nDNA est basé sur l'utilisation d'un substrat cinétoplaste *Crithidia luciliae* décrit initialement par Aarden, *et al* (29). Des rapports récents de plusieurs chercheurs affirment que cette méthode constitue un test de laboratoire utile pour détecter des anticorps anti-ADNn chez les patients atteints de lupus érythémateux systémique (LES) (30-33). Ces études indiquent également que le système de test « IFA nDNA » (détection anticorps anti-ADNn par immunofluorescence indirecte) produit des résultats comparables à la méthode de radioimmunoessai pour la détection d'anticorps anti-ADNn.

PRINCIPE DU TEST

Le système de test ZEUS IFA nDNA est un essai préstandardisé de détection d'anticorps par immunofluorescence indirecte permettant l'identification qualitative et semi-quantitative d'anticorps anti-ADNn dans le sérum d'un patient et dans un sérum de contrôle. La réaction se fait en deux temps :

1. Dans un premier temps, si des anticorps anti-ADNn sont présents, une réaction a lieu entre les anticorps anti-ADNn et le cinétoplaste du substrat *C. luciliae*.
2. Dans un deuxième temps, de l'immunoglobuline de chèvre antihumaine marquée avec de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) est ajoutée au substrat. Si le sérum du patient contient des anticorps anti-ADNn, une réaction positive antigène-anticorps fluorescente de couleur vert pomme est observée lorsque les lames sont examinées sous un microscope à fluorescence. La réaction positive se reconnaît par un marquage intense dans les petits cinétoplastes du substrat *C. luciliae*.

COMPOSANTS DU SYSTÈME DE TEST

Matériel inclus :

Chaque système de test contient les composants suivants en quantité suffisante pour réaliser le nombre de tests indiqué sur l'étiquette du conditionnement. **REMARQUE : Le conjugué et les solutions de contrôle contiennent une combinaison de Procline (0,05 % v/v) et d'azoture de sodium (<0,1 % volume d'eau) comme agents de conservation. Le SAVe Diluent® contient de l'azoture de sodium comme agent de conservation sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau).**

• • •		1. Lames de substrat *C. luciliae* : Dix lames de 8 puits avec un tampon absorbant.
CONJ		2. Conjugué : Immunoglobuline de chèvre antihumaine étiquetée avec de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC). Contient une solution tampon de phosphate avec BSA et un colorant de contraste. Un flacon de 3,5 ml avec bouchon ambre. Prêt à l'emploi.
CONTROL	+	3. Contrôle positif (sérum humain) : Produira un marquage positif couleur vert-pomme du cinétoplaste dans les organismes *C. luciliae*. Une ampoule de 0,5 ml avec bouchon rouge. Prêt à l'emploi.
CONTROL	-	4. Contrôle négatif (sérum humain) : Ne produira aucun marquage détectable d'ADNn. Une ampoule de 0,5 ml avec bouchon vert. Prêt à l'emploi.
DIL	SPE	5. SAVe Diluent® : Un flacon de 30 ml à bouchon vert contenant une solution de tampon phosphate salin. Prêt à l'emploi. **REMARQUE : La solution SAVe Diluent® change de couleur lorsqu'elle est combinée à du sérum.**
BUF	PBS	6. Tampon phosphate salin (PBS) : pH 7,2 ± 0,2. Vider le contenu de chaque sachet de tampon dans un litre d'eau distillée ou déionisée. Mélanger jusqu'à ce que tous les sels soient bien dissous. Quatre sachets, suffisants pour préparer 4 litres.
MNTMED		7. Support de montage (glycérol tamponné) : Deux ampoules de 3,0 ml avec bec verseur et bouchon blanc.

REMARQUES :

1. **Les composants suivants ne doivent pas nécessairement être utilisés avec des systèmes de test ayant un numéro de lot correspondant et peuvent donc être librement utilisés avec des systèmes de test ZEUS IFA, tant que les numéros de produits sont identiques : SAVe Diluent® (produit nº FA005CC), support de montage (produit nº FA0009S) et PBS (produit nº 0008S).**
2. **Le système de test contient également :**
   a. **Une étiquette de composant contenant des informations spécifiques de lot à l'intérieur de la boîte du système de test.**
   b. **Un CD contenant toute la documentation du produit ZEUS IFA, dont le mode d'emploi.**

PRÉCAUTIONS

1. Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
2. Observer les précautions normalement applicables lors de toute manipulation de réactif de laboratoire. En cas de contact oculaire, rincer immédiatement les yeux avec beaucoup d'eau et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés, ainsi que des gants et une protection des yeux/du visage. Ne pas respirer les vapeurs de ce produit. Jeter conformément à toutes les lois applicables.
3. Les puits de lame ne contiennent pas d'organismes viables. Cependant, les lames doivent être considérées comme des **matériaux biologiques dangereux** et être manipulées en conséquence.

4. Les solutions de contrôle sont des **matériaux biologiques dangereux**. Les matériaux d'origine de ces produits ont fait l'objet de tests approuvés n'ayant révélé aucune présence d'antigène du VIH-1, de HBsAg et d'anticorps contre le VHC et le VIH. Cependant, puisqu'aucune méthode de test n'offre une garantie absolue d'absence de tout agent infectieux, ces produits doivent être manipulés selon les consignes du niveau 2 de biosécurité, conformément aux recommandations applicables aux échantillons de sang et aux sérums humains potentiellement infectieux dans le manuel des centres américains de contrôle des maladies intitulé « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » (dernière édition) et conformément aux normes de l'OSHA concernant les agents pathogènes sanguins (20).
5. Pour obtenir des résultats exacts, il est essentiel de respecter les délais et les températures d'incubation. Vérifier que tous les réactifs sont équilibrés à température ambiante (20–25 ºC) avant de commencer le test. Replacer immédiatement les réactifs inutilisés dans leur récipient et observer les consignes de stockage.
6. Un mauvais lavage peut causer de faux résultats positifs ou négatifs. S'assurer de minimiser la quantité de solution PBS résiduelle (par absorption) avant d'ajouter le conjugué. Ne pas laisser les puits sécher entre les incubations.
7. La solution SAVe Diluent®, le conjugué et les solutions de contrôle contiennent de l'azoture de sodium sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau). Il a été signalé que l'azoture de sodium pouvait former des accumulations de plomb ou d'azoture de cuivre dans la tuyauterie de laboratoire, lesquelles peuvent causer des explosions ou des détonations. Pour éviter ce risque, rincer abondamment les éviers avec beaucoup d'eau après y avoir jeté une solution contenant de l'azoture de sodium. Cet agent de conservation peut être toxique s'il est ingéré.
8. La dilution et l'adultération de ces réactifs peuvent produire des résultats erronés.
9. Ne jamais pipeter à la bouche. Éviter tout contact de la peau ou des muqueuses avec des réactifs ou des échantillons humains.
10. Éviter toute contamination microbienne des réactifs. Des résultats incorrects pourraient survenir.
11. Toute contamination des réactifs ou des échantillons pourrait fausser les résultats.
12. Les récipients en verre réutilisables doivent être lavés et abondamment rincés de façon à enlever tout résidu de détergent.
13. Éviter les éclaboussures et la génération d'aérosols.
14. Ne pas exposer les réactifs à une lumière puissante durant leur stockage ou durant une incubation.
15. Laisser le paquet de lames arriver à température ambiante avant d'ouvrir l'enveloppe protectrice, afin de protéger les puits et le tampon absorbant de toute condensation.
16. Récupérer la solution de lavage dans un bassin à résidus. Traiter la solution résiduelle avec un désinfectant (p. ex. 10 % de javel domestique à 0,5 % d'hypochlorite de sodium). Éviter d'exposer les réactifs aux vapeurs de javel.
17. Ne pas exposer les réactifs à des solutions contenant de la javel ni même aux odeurs fortes s'échappant d'une solution contenant de la javel. De très petites quantités de javel (hypochlorite de sodium) peuvent détruire l'activité biologique de plusieurs réactifs de ce système de test.
18. Ne pas appliquer de pression sur l'enveloppe de lame. Une telle opération risquerait d'endommager le substrat.
19. Les composants de ce système de test sont assemblés pour procurer une sensibilité et une reproductibilité optimale. Ne pas remplacer les réactifs par des produits d'autres fabricants. Lire attentivement la notice dans l'emballage.
20. Composants non ouvert/ouvert sont stables jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette, dans la mesure où les conditions de stockage recommandées sont rigoureusement respectées. Ne pas utiliser après la date de péremption. Ne pas congeler.
21. Le colorant de contraste bleu Evans est potentiellement cancérigène. En cas de contact cutané, rincer abondamment sous l'eau. Jeter les résidus conformément aux réglementations locales en vigueur.
22. Ne pas laisser les lames sécher durant la procédure. Selon les conditions ambiantes du laboratoire, il est possible qu'il soit nécessaire de placer les lames dans une pièce humide durant les périodes d'incubation.

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

1. Petites pipettes sérologiques Pasteur capillaires ou automatiques.
2. Embouts de pipettes jetables.
3. Petits tubes d'essai, Aq 13 x 100 mm (ou de dimensions comparables).
4. Supports pour tubes d'essai.
5. Plateau de marquage : Un grand plateau de marquage avec un petit dispositif de mélange magnétique sera idéal pour laver les lames entre les incubations.
6. Bandes de recouvrement, 24 x 60 mm, épaisseur nº 1.
7. Eau distillée ou déionisée.
8. Microscope à fluorescence correctement équipé.
9. Cylindre gradué d'un litre.
10. Minuterie de laboratoire pour mesurer les étapes d'incubation.
11. Bassin de résidus et de désinfectant (p. ex. 10 % de javel domestique - 0,5 % d'hypochlorite de sodium).

Les systèmes de filtres suivants (ou des systèmes équivalents) sont satisfaisants pour un usage routinier avec des assemblages de microscopie sur fond noir avec lumière transmise ou incidente :

Lumière transmise		
Source lumineuse : Vapeur de mercure 200 W ou 50 W		
Filtre d'excitation	Filtre barrière	Filtre de suppression rouge
KP490	K510 ou K530	BG38
BG12	K510 ou K530	BG38
FITC	K520	BG38
Source lumineuse : Tungstène – Halogène 100W		
KP490	K510 ou K530	BG38

Lumière incidente			
Source lumineuse : Vapeur de mercure 200, 100, 50 W			
Filtre d'excitation	Miroir dichroïque	Filtre barrière	Filtre de suppression rouge
KP500	TK510	K510 ou K530	BG38
FITC	TK510	K530	BG38
Source lumineuse : Tungstène – Halogène 50 et 100 W			
KP500	TK510	K510 ou K530	BG38
FITC	TK510	K530	BG38

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

1. ZEUS Scientific recommande que l'utilisateur prélève les échantillons conformément au document M29 du CLI intitulé « *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infectious Diseases* ». Aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie totale qu'un échantillon de sang humain ne causera aucune transmission d'infection. Par conséquent, tous les dérivés d'échantillons sanguins doivent être considérés comme possiblement infectieux.
2. Utiliser uniquement du sérum sanguin fraîchement prélevé et correctement réfrigéré, obtenu selon la procédure de ponction veineuse aseptique de cette analyse (34, 35). Ne pas ajouter d'anticoagulant ni d'agent de conservation. Éviter d'utiliser du sérum sanguin hémolysé, lipémique ou exposé à des bactéries.

3. Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante pendant un maximum de 8 heures. Si aucun test n'est effectué dans un délai de 8 heures, le sérum sanguin peut être stocké à 2 – 8 °C pendant un maximum de 48 heures. Si l'exécution du test est retardée, le sérum sanguin peut être stocké à -20 °C ou moins. Éviter les cycles multiples de gel/dégel pouvant causer une perte d'activité anticorps et produire des résultats erronés. Les laboratoires utilisateurs ont la responsabilité de consulter tous les documents de référence disponibles et/ou leurs propres études afin de déterminer les critères de stabilité appropriés pour leur laboratoire (37).

CONDITIONS DE STOCKAGE

2°C – 8°C	Système de test non ouvert.
	Support de montage, conjugué, SAVe Diluent®, lames, contrôles négatifs et positifs.
	PBS réhydraté (stable 30 jours).
2°C – 25°C	Paquets de tampon phosphate salin (PBS).

PROCÉDURE D'ESSAI

1. Sortir les lames de leur lieu de stockage réfrigéré et laisser les lames se réchauffer à température ambiante (20 – 25 °C). Déchirer l'enveloppe protectrice et sortir les lames. **Ne pas appliquer de pression sur les côtés plats de l'enveloppe protectrice.**
2. Identifier chaque puits selon le sérum de patient et les contrôles. **REMARQUE :** Les contrôles doivent être utilisés non dilués. Préparer une dilution 1:10 (p. ex. 10 µl de sérum + 90 µl de SAVe Diluent® ou du tampon PBS) pour chaque patient. **La solution SAVe Diluent® changera de couleur pour confirmer que l'échantillon a été combiné avec le diluant.**
   Options de dilution :
   a. Les utilisateurs peuvent titrer le contrôle positif jusqu'à l'extrémité pour l'employer comme contrôle semi-quantitatif (1+ minimalement réactif). Dans un tel cas, le contrôle doit être dilué avec deux volumes de SAVe Diluent® ou du tampon PBS. Lorsque l'évaluation est réalisée par ZEUS Scientific, la dilution d'extrémité est établie et imprimée sur l'ampoule de contrôle positif (± 1 dilution). Il est important de signaler qu'à cause des variations propres à chaque laboratoire (équipement, etc.), le laboratoire doit établir son propre titre d'extrémité attendu pour chaque lot de contrôle positif.
   b. Lors du titrage des spécimens prélevés sur des patients, les dilutions initiales doivent être préparées dans du SAVe Diluent® ou du tampon PBS et toutes les dilutions subséquentes doivent être préparées uniquement avec du SAVe Diluent® ou du tampon PBS.
3. Avec un distributeur approprié (indiqué ci-dessus), distribuer 20 µl de chaque contrôle et de chaque sérum de patient dilué dans les puits appropriés.
4. Incuber les lames à température ambiante (20 – 25 °C) pendant 30 minutes.
5. Rincer délicatement les lames avec du tampon PBS. **Ne pas appliquer directement un jet de PBS dans les puits d'essai.**
6. Laver les lames avec deux intervalles de 5 minutes, en changeant de PBS entre les lavages.
7. Retirez une à une les lames du tampon PBS. Inverser la lame et les puits principaux dans les trous des buvards fournis. Épongez la lame en essuyant le côté opposé avec une serviette absorbante. ATTENTION : Placer le buvard et la lame sur une surface plane et dure. L'utilisation de serviettes essuie-tout pour éponger risquerait de détruire la matrice de lames. Ne pas laisser les lames sécher durant la procédure de test.
8. Ajouter 20 µl de conjugué dans chaque puits.
9. Répéter les étapes de 4 à 7.
10. Appliquer 3-5 gouttes de support de montage sur chaque lame (entre les puits) et une bande de recouvrement. Examiner immédiatement les lames avec un microscope à fluorescence approprié.

REMARQUE : S'il n'est pas possible d'examiner immédiatement les lames, appliquer du vernis à ongles transparent sur la bande de recouvrement pour fermer hermétiquement les contours et ranger au réfrigérateur. Il est recommandé que les lames soient examinées le jour même du test.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

1. Chaque fois qu'un essai est exécuté, un contrôle positif, un contrôle négatif et un contrôle tampon doivent être inclus.
2. Il est recommandé de lire le contrôle positif et le contrôle négatif avant l'évaluation des résultats du test. Il sera ainsi possible d'établir les références nécessaires pour interpréter l'échantillon du test. Si les contrôles ne sont pas conformes à la description, les résultats sont invalides.
   a. Contrôle négatif – Caractérisé par l'absence de marquage fluorescent sur le cinétoplaste. Un marquage du noyau uniquement et/ou un marquage du corps basal doit être interprété comme un résultat négatif.
   b. Contrôle positif – Caractérisé par un marquage fluorescent de couleur vert pomme sur le cinétoplaste. Un marquage du corps basal **et** du cinétoplaste doit être considéré comme un résultat positif.
3. Des contrôles supplémentaires peuvent être testés conformément aux réglementations gouvernementales en vigueur et aux normes des organisations d'accréditation compétentes.

REMARQUES :

a. L'intensité de la fluorescence observée peut varier selon le microscope et le système de filtre utilisé.

b. Le cinétoplaste est généralement situé plus près du corps basal que le noyau ; cependant, à cause de la nature fluide de l'endoplasme, la position du cinétoplaste peut varier d'une cellule à l'autre (36).

C. Examiner uniquement un organisme bien défini dans chaque champ. Certains organismes n'ont pas une apparence optimale ; la morphologie peut varier d'un organisme à l'autre à cause de leur fixation, de leur stade de croissance et/ou de l'orientation de la lame lors du séchage (36).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. Un titre inférieur à 1:10 est considéré négatif.
2. Test positif : Observation d'un marquage vert pomme sur le petit cinétoplaste du substrat de *C. luciliae*, avec une dilution 1:10, sur une échelle de 1+ à 4+. 1+ correspond à une réaction faible et 4+ à une réaction forte. Tous les sérums positifs à 1:10 doivent être titrés à la dilution d'extrémité. Cette opération est réalisée en faisant des dilutions en série de 1:10, 1:20, 1:40, etc. avec uniquement des résultats positifs. Le titre d'extrémité est le taux de dilution le plus élevé produisant une réaction positive.
3. Le marquage simultané du petit cinétoplaste et du plus grand noyau *C. luciliae* adjacent doit être interprété comme un résultat positif.
4. Un marquage polaire à la base des flagelles n'est pas significatif.
5. Un marquage du noyau seulement ne doit pas être interprété comme un résultat positif.

REMARQUE : Un effet de prozone peut être observé avec une faible dilution du sérum d'un patient. Si un tel effet semble possible, il est suggéré de retester l'échantillon du patient avec un taux de dilution plus élevé (p. ex. 1:40 ou 1:80).

LIMITES DE L'ESSAI

1. Le système de test ZEUS IFA nDNA est un outil d'aide au diagnostic. Il est donc essentiel que les résultats d'anticorps anti-ADNn soient interprétés par une autorité médicale compétente en tenant compte des informations cliniques globales du patient.
2. Les patients souffrant de LES et suivant un traitement à base de stéroïdes peuvent avoir un résultat négatif (5, 8 et 9).
3. Certains médicaments, particulièrement l'hydralazine, peuvent générer une production d'anticorps anti-ADNn (5, 6 et 8).

RÉSULTATS ESPÉRÉS

Les valeurs espérées chez une population normale sont un résultat négatif avec une dilution de départ à 1:10. Cependant, certains médicaments peuvent causer un résultat positif d'anticorps anti-ADNn (5, 6).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Le système de test ZEUS IFA nDNA a été évalué en parallèle avec une procédure de référence de détection d'anticorps antinucléaires (AAN) utilisant un substrat de foie de rat. Cinquante-deux sérums contenant des anticorps antinucléaires provenant de patients ayant fait l'objet de diagnostics divers (incluant de LES) ont été retestés avec le système de test ZEUS IFA nDNA. Le tableau suivant résume les résultats comparatifs.

Sommaire de l'étude comparative du système de test ZEUS IFA nDNA : ANN et ADNn avec diverses maladies			
Nombre de patients	**Diagnostic**	**Résultats AAN positifs**	**Résultats ADNn positifs**
11	Lupus systémique	11	9
8	Hypertension ou urémie	8	0
3	Sclérodermie	3	0
4	Arthrite rhumatoïde	4	0
1	Syndrome de Sjögren	1	0
5	Chirurgie à cœur ouvert	5	0
20	Autre diagnostic ou aucun diagnostic	20	0
52*		52*	9*

*Les données présentées dans le tableau ci-dessus révèlent la spécificité relative du test d'ADNn pour diagnostiquer le lupus érythémateux systémique (LES). Des 11 patients atteints de LES, neuf se sont avérés être à un stade aigu de néphrite lupus, ce diagnostic ayant été confirmé par une biopsie rénale. Les deux patients ayant obtenu un résultat négatif d'anticorps anti-ADNn ne souffraient d'aucune maladie rénale active. Aucun autre patient souffrant d'autres maladies n'a présenté d'anticorps anti-ADNn dans le sérum, bien que ces 41 patients aient obtenu un titre positif de détection d'ANN avec des dilutions allant de 1:40 à 1:40 000.

Spécificité : Le système de test ZEUS IFA nDNA peut détecter des anticorps d'IgG, IgA et IgM dans le cadre d'analyses avec diffusion de gel et d'analyses immunoélectrophorétiques du conjugué d'immunoglobuline antihumaine marquée avec du FITC.

RÉFÉRENCES

1. Robbins WC, Holman HR, Deicher HRG, *et al*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:575, 1957.
2. Seligman M: Cr. Acad. Sci. (Paris), 245:243, 1957.
3. Ceppelini R, Polli E, Celada F: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:572, 1957.
4. Deicher HRG, Holman HR, Kunkel HG: J. Exp. Med. 109:97, 1959.
5. Dubois EL: J. Rheumatol. 2:204, 1975.
6. Epstein WV: J. Rheumatol. 2:215, 1975.
7. Blomgren SE: Seminars Heamtol. 10:345, 1973.
8. Alarcon-Segovia D, Fishbein E: J. Rheumatol. 2:167, 1975.
9. Klajman A, Farkas R, Gold E, Ben-Efraim S: Clin. Immunol. Immunopath. 3:525, 1975.
10. Pincus T, Schur PH, Rose JA: N. Engl. J. Med. 281:701, 1969.
11. Koffler D, Carr RI, Agnello V, *et al* : Science 166:1648, 1969.
12. Gershwin ME, Steinberg AD: Arthritis. Rheum. 17:947, 1974.
13. Casals SP, Friou GJ, Myers LI: Arthritis. Rheum. 7:379, 1964.
14. Arana R, Seligmann M: J. Clin. Invest. 46:1867, 1967.
15. Tan EM, Schur PH, Carr RI, *et al*: J. Clin. Invest. 45:1732, 1966.
16. Stollar D, Levine L, Leher HI, *et al*: Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 48:874, 1962.
17. Bosicevich J, Nasou JP, Kayhoe DE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103:636, 1960.
18. Jokinen EJ, Julkunen H: Ann. Rheum.Dis. 24:477, 1965.
19. Matrer R, Helgeland SM, Tonder O: J. Immunol. Methods 5:345, 1974.
20. Bickel YB, Barnett EV, Pearson CM: Clin. Exp. Immunol. 3:641, 1968.
21. Davis JS, IV: Arthritis. Rheum. 14:377, 1971.
22. Johnson GD, Edmonds JP, Holbrow EJ: Lancet 2:883, 1973.
23. Wold RT, Young FE, Tan EM, *et al*: Science 161:806, 1968.
24. Farr Rd: J. Infect. Dis. 103:239, 1958.
25. Koffler D, Schur PH, Kunkel HG: J. Exp. Med. 126:607, 1967.
26. Harbeck RJ, Bardana EJ, Kohler PF, *et al*: J. Clin. Invest. 52:789, 1973.
27. Cohen SA, Hughes GRV, Noel GL, *et al*: Clin. Exp. Immunol. 8:551, 1971.
28. Natali PG, Tan EM: J. Clin. Invest. 51:345, 1972.
29. Aarden LA, deGroot ER, Feltkemp EW: Ann. NY Acad. Sci. 254:505, 1975.
30. Slater NGP, Cameron JS, and Lessof MH: Clin. Exp. Immunol. 25:480, 1976.
31. Stingl G, Meingassner JG, Swelty P, *et al*: Clin. Immunol. Immunopath. 6:131, 1976.
32. Davis P, Christian B, and Russel AS: J. Rheumatol. 4:15, 1977.
33. Tourville DR, and Benn V: Microbiological Proceeding, 1977.
34. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Second Edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
35. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
36. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
37. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.

ZEUS Scientific, Inc.
200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA
Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2
International: +1 908-526-3744
Fax: +1 908-526-2058
Website: www.zeusscientific.com

Si vous désirez une assistance clientèle aux États-Unis, veuillez contacter votre distributeur local.
Si vous avez besoin d'assistance technique aux États-Unis, veuillez contacter ZEUS Scientific au numéro de téléphone gratuit indiqué ou par courriel à support@zeusscientific.com.
Les clients ayant besoin d'assistance commerciale ou technique hors des États-Unis doivent contacter leur distributeur régional.

EC REP
EMERGO EUROPE
Molenstraat 15
2513 BH, The Hague
The Netherlands
Tel: +31 (0)70 345 8570
Fax: +31 (0)70 346 7299

ZEUS IFA et SAVe Diluent® sont des marques de commerce de ZEUS Scientific, Inc.
© 2014 ZEUS Scientific, Inc. Tous droits réservés.